典型拉曼光谱技术及其在农业检测中应用研究进展

高 振[1,2]，赵春江[1,2]，杨桂燕[2]，董大明[2*]

（1. 中国农业大学 信息与电气工程学院，北京 100083；2. 北京市农林科学院国家农业智能装备工程技术研究中心，北京 100097）

摘 要：拉曼光谱是一种散射光谱，具有快速、不易受水分干扰、样品无需预处理和在体检测等特点，可作为分析、测试物质分子成分和结构强有力的表征手段。随着拉曼光谱技术的不断发展，其在农业检测领域中逐渐发挥出极其重要的作用。本文概述了拉曼光谱的检测原理，从共聚焦显微拉曼光谱、傅里叶变换拉曼光谱、表面增强拉曼光谱、针尖增强拉曼光谱、共振拉曼光谱、空间偏移拉曼光谱、移频激发拉曼差分光谱、基于非线性光学的拉曼光谱等8个方面介绍了拉曼光谱技术，重点总结了拉曼光谱技术在植物检测、土壤检测、水质检测、食品检测等方面的应用研究进展，并提出了其在农业检测领域中应用需要解决的难题和未来的发展方向，以期对未来农业生产和研究带来启发。

关键词：拉曼光谱；植物表型；植物胁迫；土壤检测；农药残留检测；水质检测；食品检测

中图分类号：O657.37；S-1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**SA202201013

引用格式：高振，赵春江，杨桂燕，董大明．典型拉曼光谱技术及其在农业检测中应用研究进展[J]．智慧农业(中英文)，2022，4(2)：121-134.

GAO Zhen, ZHAO Chunjiang, YANG Guiyan, DONG Daming. Typical Raman spectroscopy technology and research progress in agriculture detection[J]. Smart Agriculture, 2022, 4(2): 121-134. (in Chinese with English abstract)

1 引 言

农业是与人类生活息息相关的产业，是国民经济的重要支柱。智慧农业需要更为快速、先进、准确的传感器来获取动植物的表型特征，让农业生产更加“聪明”和“智慧”[1]。农业产业链中面临着种种问题：在农产品生产、收获、加工以及销售的一系列流程中，农作物的生长状况、农产品的产量及加工流程等均需要进行实时监测；农药的使用可能导致农产品存在农药残留，威胁人类健康；在食品加工过程中，厂家为了提升经济利益而在食品中掺假的情况时有发生。传统的检测手段需要对样品进行前处理，耗时、费力、破坏样品，运用快速、无损、在线的测量方法来解决上述农业中的监测和检测难题成为热点。

1928年，印度科学家C.V. Raman发现了光的非弹性散射现象，称为拉曼效应[2]。拉曼光谱是基于激发光谱和待测分子之间的拉曼效应所获得的光谱。拉曼光谱测量分子的振动与转动，拉

收稿日期：2021-08-25

基金项目：国家自然科学基金（32101609）；北京市自然科学基金（JQ19023）

作者简介：高 振（1995—），男，博士研究生，研究方向为光学传感和拉曼光谱技术及其应用系统研发等。E-mail：z@cau.edu.cn

*通信作者：董大明（1983—），男，博士，研究员，研究方向为红外与激光光谱技术在环境监测和农业中的应用。E-mail：dongdm@nercita.org.cn

曼频移大小与入射光源波长无关，通过谱峰的位置可反映被测物质分子的官能团或化学键的特征振动频率。因此，拉曼光谱被称为“分子指纹”。作为一种强有力的分子检测手段，拉曼光谱技术可实现样本快速、无损检测[3-5]。此外，水分子的拉曼散射效应较弱，在测量中，拉曼光谱不易受水分子的干扰。这使得拉曼光谱能够用于含水生命体的测量[5]。拉曼光谱的测量原理如图1所示。

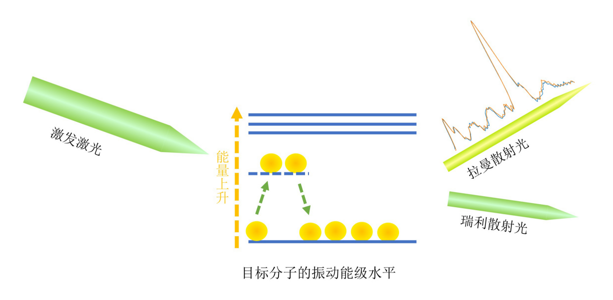


图1　拉曼光谱测量原理示意图

Fig. 1 Schematic diagram of Raman spectroscopy measurement principle

本文从拉曼光谱的测量原理出发，总结了8种典型拉曼光谱技术的原理和优缺点，重点介绍了拉曼光谱在农业检测中的研究进展，并分析了存在的问题和未来发展方向。

2　典型拉曼光谱技术概述

拉曼光谱的信号非常微弱，受散射光强度低的影响，在过去很长一段时间内拉曼光谱的发展十分受限。直到1960年激光技术兴起后，拉曼光谱仪以激光作为光源，才得以使散射信号强度大幅提高，拉曼光谱技术才得以迅速发展。随着激光技术、光学元器件制作工艺、电子设备、纳米科技、计算机技术的成熟和不同研究需求的促进，拉曼光谱已经成为具有多种测量形式的分析技术。本节将介绍8种典型的拉曼光谱技术。

2.1 共聚焦显微拉曼光谱技术

共聚焦显微拉曼光谱是将共聚焦技术、拉曼光谱技术、显微技术三者相融合，能够在微米级尺度的空间中对样品进行拉曼高光谱成像，实现对样品的化学组成以及空间分布的同步分析[6]。共聚焦技术配置针孔，可在样品X轴、Y轴（横纵向）和Z（深度）轴上进行空间滤波，能够有效地滤除杂散光，提高信噪比。因此，共聚焦显微拉曼光谱技术成像清晰，具有高空间分辨率，已广泛应用于生命科学领域微观尺度的研究[6,7]。长焦拉曼光谱仪还具有很高的光谱分辨率，从而能够区分更多物质的特征峰，应用于更为复杂的混合物质的检测中。

共聚焦显微拉曼光谱技术需要更为复杂的显微结构和更大体积的光学腔室作为基础，因此这一类拉曼光谱仪一般用于实验室中的检测和测量。且由于焦长较长，仪器需要较为严苛的环境（如温度、湿度、振动等）来保证稳定性。同时因为显微的拉曼光谱仪一般为色散分光系统，感光系统的材料为硅，因此常用的激发光波段为紫外和可见光区域。而紫外光的能量高，容易损伤生物样本，所以常用可见光波段进行激发。这就导致了产生的荧光背景较高，从而促进了拉曼光谱荧光背景消除算法的使用和发展。

2.2 傅里叶变换拉曼光谱技术

拉曼信号易受样品中发色团荧光信号的干扰。傅里叶变换拉曼光谱是近红外激发拉曼技术与傅里叶变换技术的结合，在1986年由赫希Hirschfeld（非尔德）和Chase（蔡斯）首次实际应用[8]。傅里叶变换拉曼光谱技术由于没有经过光栅色散，这种技术的信噪比在其他测量参数相同的情况下一般高于色散型光谱仪。傅里叶变换拉曼光谱通常以1064 nm激光作为激发光源，可以极大地降低样品的荧光信号，有效避免荧光对拉曼散射的干扰，提升拉曼光谱的信号强度和信噪比[9]。有研究者总结了将此项技术应用在食品领域的潜力研究[10]。近些年来，也有研究者将可见波段的激光与傅里叶光谱仪结合[11]，有望成为一种新的发展趋势。

2.3 表面增强拉曼光谱技术

表面增强拉曼效应最早由Fleischmann等[12]在1974年发现，它推动了增强拉曼光谱技术的研究。表面增强拉曼光谱技术（Surface Enhanced Raman Spectroscopy，SERS）解决了自发

拉曼光谱检测灵敏度低的问题。当待测分子吸附在粗糙的金属材料表面时，可使待测物的拉曼信号有效增强。其增强机制可分为物理增强和化学增强[13]。SERS活性基底的制备是获得增强拉曼信号的前提条件，只有金、银、铜等少数金属基底才具有很强的SERS效应。随着纳米科技的发展，SERS基底的制备方法取得了巨大的进步。不同的增强基底对样品的增强效果差别很大，因此针对特定分析物研制合适的基底有利于提高检测灵敏度和稳定性。比如对于痕量物质，需要在基底上涂有富集功能的材料以实现痕量物质的检测；对于金属亲和性不强的待测物质，需要有核酸适配体等其他物质的修饰进行亲和富集。

SERS技术已经应用于植物中提取的激素等分子的分析检测及植物病原体检测等方面[14]。它的优势在于具有很高的灵敏度，相比于自发拉曼光谱，SERS的光谱强度可以增强3～4个数量级，因此具有更低的检测限。但是传统的SERS技术稳定性较低，尤其是在定量分析中，难以获得稳定的定量结果，同时，由于基板的光热效应，容易损伤待检测的生物分子，具有很低的生物相容性。因此，提升定性和定量的稳定性是下一步SERS技术的发展方向。

2.4 针尖增强拉曼光谱技术

普通显微拉曼光谱技术由于光学衍射极限和探测器灵敏度的限制，很难直接应用于纳米尺度表征。针尖增强拉曼光谱技术是将扫描探针显微镜与SERS相结合，具有高灵敏度和高空间分辨率[15]。当入射光照射在纳米尺度的尖锐金属探针尖端时，在局域表面等离激元共振效应、避雷针效应和天线效应的共同作用下，针尖附近几纳米到十几纳米范围内会产生强烈的局域电磁场增强，增强针尖下方样品的拉曼信号[16]。通过扫描探针显微镜操作针尖在样品上方的扫描，能够实现样品表面纳米尺度的形貌表征和纳米局域拉曼光谱同步探测。

针尖增强拉曼光谱技术已经应用于检测RNA序列[17]、农药[18]、细菌、病毒等[19,20]等多个方面。这一技术的优势是可以提供更高的空间分辨率，甚至可以达到纳米级的空间分辨。可在分子水平上进行科学研究，为纳米尺度的化学分析和成像开辟了新的可能。由于针尖区域的磁场增强，可以具有更高的灵敏度和更低的检测限。测量稳定的结果需要制备外形尺寸一致、光学特性可精确控制、可长期保存并且使用的高质量TERS（Tip Enhanced Raman Spectroscopy）探针，但是当前的技术并不能完全达到这一要求。

2.5 共振拉曼光谱技术

共振拉曼光谱是将激发光的能量调整到待测物电子跃迁能量附近以达到共振效果。但是共振激发波长一般位于紫外-可见光区域，因此共振拉曼光谱的荧光背景也会更加显著，这种方法容易受到荧光的干扰[21-23]。

共振拉曼光谱技术已经成功应用于植物色素的检测中，例如典型的类胡萝卜素，在可见光区域使用532、514.4和488 nm的激光都能够产生共振增强的效果，信号强度可增强2～6个数量级，因此具有更高的灵敏度[24,25]。由于激发光谱能够激发待测分子的电子能级跃迁，因此这一技术获取的拉曼光谱通常伴有较强的荧光背景。采用预共振的激发光波长能够减弱荧光背景，但是减弱的幅度有限。

2.6 空间偏移拉曼光谱

空间偏移拉曼光谱技术（Spatial Offset Raman Spectroscopy，SORS）是在样品表面离开光源照射点一定位移处收集拉曼信号，位移越大，所得拉曼信号中更深层样品的贡献越多。传统的背向散射拉曼光谱穿透深度很浅，只能获得样品表面的物质成分。透射式拉曼光谱是待测物内所有化学信息的表征，无法对不同深度位置点的信息进行反映，空间偏移拉曼为实现物质内部深层次化学信息非损伤性检测提供了可能。

空间偏移拉曼光谱已经应用于鲑鱼质量[26]和马铃薯块茎营养成分的非侵入性和非破坏性评估[27]。这一技术的优势是可以在不破坏样品表层的情况下获得样品内部的物质成分信息，并对待测对象进行纵深方向上的成分分析，获取深层

次的化学信息。但是对于激发光谱吸收严重的样品，会导致拉曼信号强度降低。同时相比于传统的自发拉曼光谱技术，需要更高量子效率的电荷耦合元件（Charge-Coupled Device，CCD）和复杂的光路设计，从而成本造价更高[28]。

2.7 移频激发拉曼差分光谱

移频激发拉曼差分光谱是根据拉曼偏移与激发波长无关的特性，使用两个相近的激发波长激发样品获取光谱后做差分，分析得出拉曼光谱的技术。这种技术能够有效地降低测量的荧光背景，分析强度较弱的拉曼信号[29]。

这一技术已经应用在土壤成分检测等方面[30]，因为其独特的算法和光路的优势，能够大幅度降低荧光背景对拉曼信号的影响。但是这一技术需要双波长激光进行激发，因此需要更为复杂的光路设计，甚至需要两组光路，增加了系统的复杂性。

2.8 基于非线性光学的拉曼光谱

基于非线性光学原理的两种拉曼光谱手段也可用于提升信噪比，分别叫做相干反斯托克斯拉曼光谱[31]和受激拉曼光谱[32]。

目前，基于非线性光学的拉曼光谱技术主要集中在快速成像上，应用较少。现已有受激拉曼光谱应用于植物叶片的角质层及木聚糖等物质的成像分析[33]。相干反斯托克斯拉曼光谱技术也有应用于植物细胞壁的木质素的成像分析研究[34]。受激拉曼光谱由于双光子共振效应增大了拉曼散射截面，提高拉曼激发效率，可以显著地提升信噪比。相干反斯托克斯拉曼光谱技术能够研究反斯托克斯散射，从而避免了荧光等其他因素的影响。两种技术都具有很快的光谱成像速度。但是两者的光学结构相对于自发拉曼光谱要复杂的多，甚至会用到飞秒激光器等设备，造价昂贵。以上所述拉曼光谱技术的优缺点对比如表1所示。

表1　不同拉曼光谱技术优缺点对比

Table 1 Advantages and disadvantages of different Raman spectroscopy techniques

拉曼技术类别	优点	缺点
共聚焦显微拉曼光谱	可成像分析，高空间分辨率	可见光波段有荧光背景，体积大
傅里叶变换拉曼光谱	减少荧光干扰，提高信号强度	温度漂移
移频激发拉曼差分光谱	无荧光干扰	需双激光激发
空间位移拉曼光谱	可无损伤测量样品内部化学信息	需激发光和采集光偏移的光路系统
表面增强拉曼光谱	高灵敏度，低检测限	定量性和稳定性差
共振拉曼光谱	高灵敏度	荧光干扰
针尖增强拉曼光谱	高灵敏度，纳米级空间分辨率，低检测限	稳定性差
受激拉曼光谱	提高信噪比和信号强度，成像速度快	技术复杂
相干反斯托克斯拉曼光谱	高灵敏度	技术复杂

3　拉曼光谱在农业检测中的应用

拉曼光谱在农业主要领域检测中的应用主要包括植物检测、土壤检测、水质检测以及食品检测等。其中，植物检测包括植物表型研究和植物胁迫检测，土壤检测包括土壤农药残留检测、土壤菌落检测和土壤营养物质检测，食品检测包括食品农药残留检测、食品品质检测以及食品掺假检测等。

3.1 植物检测

拉曼光谱技术具有“分子指纹”特性，能够特异性识别生物分子，且不需要样品制备。这满足了对植物中特定分子及其含量在体鉴定和表征的需求，现已应用于植物表型研究和植物胁迫检测。

3.1.1　植物表型研究

拉曼光谱的植物表型包括植物的成熟程度、

生物大分子物质的测量以及不同基因型的分类为植物育种提供指导等。

如何判断植物生长阶段是重要研究方向，在植物成熟的时候及时收获有助于提高经济效益。拉曼光谱可以用于检测水果的成熟度，Khodabakhshian等[35]以开花之后88 d到143 d的四个明显不同成熟阶段的石榴作为样本，基于傅里叶变换拉曼光谱进行分析，通过无监督算法主成分分析（Principal Components Analysis，PCA）将四种类型的石榴拉曼光谱区分开，采用有监督的算法偏最小二乘判别分析（Partial Least Squares Discriminant Analysis，PLS-DA）和软独立模式分类法（Soft Independent Modeling of Class Analogy，SIMCA）进行分类分析，其中SIMCA可以达到82%的准确度，PLS-DA的训练集和验证集的准确度分别为96%和95%。当只采用“成熟”和“不成熟”两种类别时，基于PCA的SIMCA模型能够达到100%的分类准确度。拉曼光谱还可以通过水果表面检测内部的成熟程度，Qin等[36]探索了基于SORS无损评价番茄内部成熟度的方法，通过荧光校正后的偏移光谱的自建模混合分析，有效分离了外果皮层和特氟隆层的拉曼信号，检测到番茄内部的类胡萝卜素变化从而实现对番茄成熟度的区分。

拉曼光谱结合化学计量学方法能对植物品种进行分类。Morey等[37]用9个土豆品种进行实验，由于土豆的颜色不同，散射光谱的强度也不同，将原始光谱标准化到1460 cm^{-1}并用于之后的分析，用SORS技术实现了对土豆的营养成分分析、品种鉴定和产地确定。Farber等[38]基于正交偏最小二乘法法和籽粒的拉曼光谱实现95%的基因型区分准确度。研究还发现拉曼光谱可以用于检测花生籽粒的营养含量（碳水化合物、蛋白质、纤维、油、不饱和脂肪酸），说明拉曼光谱可以根据花生叶子和种子的光谱特征准确识别花生品种，用于精准育种。Jentzsch等[39]对从不同省份采集的National和CCN-51品种的可可豆样品进行研究，每个可可豆在4个不同的样品点测量，使用化学计量学处理光谱数据，区分品种总准确度为91.8%。同样地，拉曼光谱可以确定6种不同的玉米以及它们各自的营养成分[40]。

拉曼光谱能够对植物中所含有的生物大分子物质进行表征。张燕燕等[41]基于SERS技术检测了植物激素脱落酸，检测限达到0.1 μmol/L，该方法结果与酶联免疫吸附剂测定（Enzyme Linked Immunosorbent Assay，ELISA）具有良好的吻合度。类胡萝卜素作为植物的重要色素，引起了研究者们的广泛研究。Schulz等[42]研究了近红外傅里叶变换拉曼光谱类胡萝卜素原位研究中的独特优势。从多种植物组织中获得的光谱表明，C=C伸缩振动的波数位置主要受类胡萝卜素多烯链的长度和末端取代基以及它们与其他植物成分的相互作用的影响。拉曼光谱可以用于在单细胞和多细胞层面对细胞壁中多糖进行成像分析，包括纤维素、半纤维素、果胶等物质，从而用于研究水果收获后存放过程中的软化机理，揭示在不同存放温度下果肉软化过程中的细胞壁成分分解过程[43]。木质素纤维生物质可以作为可再生能源，富含可与木质素共价键结合的多糖，拉曼光谱在植物木质素的研究中也有探索[44,45]。Oliveira等[46]用傅里叶变换红外光谱和拉曼光谱表征植物细胞壁，发现Coastcross和Tifton 85两种草在酶法水解后有更低的木质素额联和更高的糖化，因此，拉曼光谱可以作为检测不同草品种中木质素含量的重要手段。

根据上述可以得知，拉曼光谱可以用于植物的表型研究，尤其是专用的拉曼光谱传感器，能够更加方便快捷地现场获取植物的表型数据，以供大数据分析。但是，拉曼光谱结合化学计量学方法的研究还需要进一步加强，和不同的机器学习算法的结合还有待探索，从而能够对植物产地分类、成熟度分类等方面达到更高的准确率。

3.1.2　植物胁迫检测

植物胁迫包括非生物胁迫（光照、水分、盐胁迫、温度等）和生物胁迫（病害、虫害等）。生长在胁迫状态下的植物会导致生长状态不佳，最终影响产量甚至死亡。因此，在胁迫的早期进行判别和鉴定能够及时介入种植管理，能够达到提升产量的目的。

拉曼光谱可以测量非生物胁迫。实时监测植

物营养状态能够及时控制肥料的使用，提升产量和降低环境影响。Huang等[47]对拟南芥、小白菜和菜心三种作物进行氮素监测，发现1046 cm^{-1}峰可以表征植物中的氮素状态，可用于对缺氮植物在没有任何可见症状前进行早期诊断氮素缺失。Sanchez等[48]使用便携式拉曼光谱仪实现了水稻氮、磷、钾的缺失症状的诊断，同时，他们还发现拉曼光谱可用于中高盐胁迫症状的预诊断。便携式夹叶传感器能够用于检测植物受到的氮素缺失和干旱胁迫，Gupta等[49]证明其监测结果和实验室台式拉曼光谱仪测量的结果一致，为拉曼光谱用于植物早期疾病现场诊断和监测植物胁迫状态提供了新工具。Zhao等[50]用共聚焦拉曼光谱扫描健康、早期缺锌和缺锌的水稻叶片，发现缺锌导致叶片中类胡萝卜素含量上升，其他成分如淀粉、蛋白质、糖类、氨基酸下降，结合最小二乘支持向量机模型建模分析，对三种叶片样品实现100%区分。

拉曼光谱不仅用于非生物胁迫，在生物胁迫方面，它也能够在早期发现胁迫导致的植物生理状态的改变。Sanchez等[51]使用拉曼光谱观察到了来自豇豆绿豆象幼虫及其排泄物影响的光谱的变化，表明化学计量学与拉曼光谱相结合能够较准确地区分未受侵染的种子和受侵染的种子。该团队还用便携式拉曼光谱对番茄上Liberibacter疾病的非侵入性诊断，达到80%的准确率[52]。

在植物病原体诊断领域传统的“黄金标准”是定量聚合酶链反应（quantitative Polymerase Chain Reaction，qPCR）技术。Sanchez等[53]对拉曼光谱表征植物遭受病害的有效性进行了验证。通过利用qPCR技术对柑橘树的黄龙病进行早期对比诊断，发现拉曼光谱不仅能够预测早期黄龙病感染，还发现光谱中表现出了qPCR阴性植物的黄龙病特异光谱特征，可以与不相关的营养缺乏的植物区分开。因此，拉曼光谱对于黄龙病的诊断更加敏感。Lin等[54]也使用SERS检测了香蕉枯萎病的致病菌和感染枯萎病的香蕉假茎，实现无症状感染样品76.2%的检出率，和逆转录-聚合酶链反应技术检测效果相似。代芬等[55]基于自荧光光谱、拉曼光谱和混合光谱三种光谱的PLS-DA模型鉴别柑橘健康样本和黄龙病样本的准确率分别为86.08%、98.17%和94.75%，拉曼光谱模型的鉴别效果最优。

拉曼光谱在植物重金属胁迫和纳米离子污染胁迫中也有研究。Timchenko等[56]基于拉曼光谱成功研究了土壤中的铜离子浓度变化对于植物光学特性的影响。

3.1.3 小结

拉曼光谱用于植物表型研究和植物胁迫状态的检测现已取得了广泛关注和研究。通过拉曼光谱进行植物胁迫状态的判断能够快速便捷且无需样品制备地给生产实践的环境调控提供指导意见。虽然拉曼光谱是“分子指纹”光谱，但是对于不同的植物胁迫类型，比如生物胁迫和非生物胁迫两个大类的甚至于更精细胁迫的区分研究还处在发展之中。

3.2 土壤检测

拉曼光谱应用于土壤领域的研究主要有土壤农药残留检测、土壤菌落检测和土壤营养物质检测三个方面。

3.2.1 土壤农药残留检测

拉曼光谱可以用于土壤中农药的残留检测。Zhang等[57]首次提出用SERS检测土壤中的福美双（Thiram），但需要离心提取样品，添加剂诱导福美双在纳米颗粒（NPs）上吸附，实验过程复杂繁琐，不利于快速、简便地分析。为了在复杂的基体中进行现场测量，Lin等[58]研发了一种基于纸基分离技术的表面增强拉曼光谱基底用于测量土壤中的福美双。这种纸基传感器可以获得0.56×10^5的增强因子，在点到点的拉曼强度变化低至12.8%，具有出色的重复性，不用任何预处理可以实现土壤中福美双的定量检测。

拉曼光谱对噻菌灵（Thiabendazole）、扑草净（Prometryn）、阿特拉津（Atrazine）[59,60]等不同种类的农药检测也同样有效。这些研究说明拉曼光谱可以用于土壤中农药残留的检测。

3.2.2 土壤菌落检测

拉曼光谱可以用于检测土壤中的菌落。生物固氮是将惰性氮气（N_2）转化为生物可利用氮

（氨或硝酸盐）的关键过程。D_2O 同位素标记的单细胞拉曼光谱可以用于检测土壤中的溶磷菌，并且可以将C-D带的强度在C-H和C-D带的比例作为磷释放量的半定量生物指标[61]。Schwarz等[62]介绍了一种使用聚乙烯亚胺（PEI）改性聚乙烯颗粒从复杂土壤样品中分离各种细菌的快速简单的策略，从土壤中分离出来的大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌、链霉菌和酸链霉菌等可以用拉曼光谱结合化学计量学方法达到92%的识别率。

3.2.3　土壤营养物质检测

拉曼光谱可以用于检测土壤中的水溶性氮。准确和快速测定土壤中的水溶性氮对于科学施肥有很大帮助。Dong等[63]使用SERS和Opto Trace Raman 202（OTR202）基底实现对土壤中水溶性氮的定量检测。研究发现，所用SERS基底的增强效应要强于金纳米基底和银纳米基底。用PLS对一次微分处理过的原始光谱进行建模所获得的预测准确度最高（$R_p^2 = 0.91$，$RMSE_p = 8.76$ mg/L，$RPD = 3.00$）。1028、1370、1436和1636 cm^{-1}都是水溶性氮的特征峰，其中1370 cm^{-1}特征峰的强度和水溶性氮浓度的关联最高（R_p^2= 0.94）。基于PCA和最小二乘支持向量机（Least Squares Supports Vector Machine，LS-SVM）对高水溶性氮含量（70.5～118.3 mg/L）和低水溶性氮含量（22.7～63.7 mg/L）的土壤可以达到86.67%的区分，有助于科学精准施肥。磷是生命体新陈代谢的必需元素。Vogel等[64]在2013年用可见光拉曼显微法测定土壤中的磷相态，但由于土壤中其他有机物质的荧光太强没有分析土壤中的磷酸盐相态，在之后实验中用深紫外激光进行激发，避免了荧光的干扰[65]。

3.2.4　小结

拉曼光谱可以对土壤中的生物和非生命物质进行检测，并且实现了土壤中农残、菌落、氮磷等痕量物质的检测。但是检测过程比较复杂，一般基于SERS技术，需要基底增强。由于SERS基底的定量性差，这对定量研究的可靠性带来了挑战。开发更加稳定的SERS基底适用于土壤的研究将会是一个发展方向。

3.3　水质检测

拉曼光谱可以用于检测水质中的污染物，包括有机物、无机物和生物污染物等。

在水中重金属和化学污染物检测方面，Liu等[66]采用锰共沉淀法结合拉曼光谱法测定微量重金属（铜、锌、镉、铅），采用偏最小二乘回归模型建立的铜、锌、镉、铅的预测的相关系数可分别达到0.979、0.964、0.956和0.972，均方根误差分别为6.587、9.046、9.998和7.751 μg/kg，表明采用共沉淀法结合拉曼光谱法测定水中重金属含量是可行的。金属有机框架材料（Metal-Organic Frameworks，MOF）具有可调的多孔结构和出色的吸附能力，通过调节等离激元MOF的孔尺寸，可以有效地产生筛选效应，降低其他生物样品的干扰。Hu等[67]用在MIL-101里面嵌入金纳米颗粒制作的新型SERS底物实现环境水中对苯二胺（p-phenylenediamine）的定量分析，在1～100 ng/mL之间的相关系数达到0.995。

对于水的农药残留检测也有研究。直接用SERS检测自然污染的水存在非特异性共吸附问题，即水中的其他物质和待测物非特异性共吸附到金属纳米结构上。为克服这一问题，Mariño–Lopez等[68]用内部含有金纳米颗粒的微孔二氧化硅胶囊作为SERS底物进行检测，这种微孔结构能够作为分子筛阻止大生物分子和细胞到达等离激元部分，并且能够使溶胶更稳定，使得滴滴涕（Dichlorodiphenyltrichloroethane）的检测限可达到1.77 μg/L。

拉曼光谱也可以用于水中细菌的检测。Escoriza等[69]评估了拉曼光谱作为水传播病原体计数技术的适用性，选择了2800～3000 cm^{-1}之间观察到的显著的C-H伸缩带用于光谱量化目的。通过过滤浓缩的样品显示出了拉曼光谱与其他定量方法之间的良好相关性，包括浊度（R^2= 0.92）、平板计数（R^2=0.87）和干重（R^2=0.97）。

拉曼光谱对于水的物理特性检测也有相关研究。Yang等[70]采用拉曼光谱法对四种水样的硬度指标进行了研究。结果表明，随着水的总硬度的降低，水的弯曲振动强度与拉伸振动强度之比

减小。这说明拉曼光谱可以直接测量水的总硬度，为水质分析提供了一种简单有效的方法。由于拉曼光谱用于水质检测存在优势，这一课题引起了研究者广泛关注。Li 等[71,72] 对于拉曼光谱用于水质检测进行了总结和归纳，根据污染物的类型介绍了用于水质检测的各种拉曼光谱技术，总结了各种拉曼光谱技术的优点和局限性。拉曼光谱也可用于水温度检测[73,74]。

由于拉曼光谱对于水不敏感，能够直接用于检测水溶液中的其他待检测分子。面对水溶液中低浓度待测分子和实际水质成分复杂的问题，通过浓缩和特异性处理等方法手段与拉曼光谱结合可以为水质检测提供更高的检测灵敏度和检测精度。但是由于水是透明基体，散射光不易被拉曼光谱仪收集，因此需要进一步研究，为拉曼光谱用于水质检测提供理论基础和实践应用。

3.4 食品检测

拉曼光谱用于食品检测主要集中在食品药物残留检测、食品掺假检测和食品品质检测。

3.4.1 食品药物残留检测

果蔬上的农药残留严重威胁人类的健康安全，拉曼光谱可以用于检测果蔬中的农药残留。聚乙烯醇修饰的金纳米颗粒溶胶用于检测水果和蔬菜中的福美双残留，将溶胶滴在被测量样品表面，在苹果、梨和蔬菜中检测限可以分别达到 4.62、7.83、10.74 μg/L，远低于 5 μg/mL 的国家标准，同时可以使用比色法人眼观察是否有福美双残留，通过 SERS 技术进一步验证，在实际应用中具有重要的意义[75]。拉曼光谱不仅可以用于单一农药的测量，还可以更加适应实际情况，检测混合农药，减少农药对人体的伤害，Hu 等[76] 提出一个无损伤和灵敏的方法，用 SERS 加界面自组装金纳米棒阵列衬底来测量基于拭子提取法回收的果实表面的福美双和噻菌灵的混合物残留，使用自建模混合分析（Self-Modeling Mixture Analysis，SMA）方法可以同时实现两个单成分的定性和定量分析，在苹果、番茄、梨上检测限针对福美双分别达到 0.041、0.029、0.047 ng/cm^2，对于噻菌灵分别达到 0.79、0.76、0.80 ng/cm^2，表明 SERS 检测结合 SMA 方法能够在实际应用中提供多分析物检测。Dhakal 等使用拉曼光谱检测苹果上的毒死蜱，将 677 cm^{-1} 的拉曼特征峰认定为毒死蜱的指纹光谱，峰强度与使用气相色谱法获得的实际农药浓度相关，并建立了多元线性回归（Multiple Linear Regression，MLR）预测模型，校准和验证的相关系数分别为 0.86 和 0.81[77]。食品上的农药残留由于对人体健康造成的巨大潜在威胁而引起了研究者们的广泛关注。张莎等[78] 使用 SERS 技术检测脐橙果肉中的抑霉唑残留，结合 PCA 和支持向量回归（Support Vector Regression，SVR）算法的预测集 R_p 可高达 0.9156；Tsagkaris 等[79] 汇总了 2016—2020 年的基于光学检测的农药残留筛查方法，包括了自发拉曼光谱和表面增强拉曼光谱技术等。

肉类食品中的药物等非食品添加剂也严重影响和威胁人类的身体健康。Zhao 等[80] 基于表面增强拉曼光谱测量鸭肉中四环素残留，使用 1272 和 1558 cm^{-1} 拉曼峰强的比值建立校准曲线，和鸭肉中提取物中的线性回归方程的相关系数为 0.950，相对标准偏差可以达到 2.4%~2.6%，结果表明这是一种快速检测鸭肉中四环素残留的良好检测方案。Girmatsion 等[81] 总结了在牛奶和肉制品（包括鸡肉、鸭肉、鱼和猪肉）中药物分析的表面增强拉曼光谱方法和应用。

3.4.2 食品掺假检测

在经济效益的推动下，不法生产者在食品里面掺假以谋取不法利益。拉曼光谱用于食品掺假的研究已经广泛存在，Joshi 等[82] 使用 1295 cm^{-1} 作为特征峰进行拉曼成像，对假鸡蛋的内外参数进行无侵入分析，并且结合算法可以实现真假鸡蛋的区分。Oroian 等[83] 基于拉曼光谱研究了掺入果糖、葡萄糖、转化糖、水解菊粉糖浆和麦芽汁的蜂蜜，结合 PLS-DA 算法对于正宗蜂蜜和掺假蜂蜜识别的总准确率可以达到 96.54%。Xu 等[84] 对拉曼光谱用于食品掺假方面的研究进行了总结。

3.4.3 食品品质检测

拉曼光谱可以用于检测食品品质，Ahmad 等[85] 利用拉曼光谱研究了温度对德西酥油分子

组成的影响，结果发现，随着油温升高，560～770 cm^{-1}、790～1160 cm^{-1}和1180～1285 cm^{-1}的拉曼峰发生变化。在500～1800 cm^{-1}的拉曼光谱范围内，对于不同的烹饪温度，用PCA算法进行了分类分析。发现140～180 ℃是德西酥油的烹饪的安全温度，在此温度内不会造成分子组成改变和营养流失。在鱼肉的新鲜度方面，Velioğlu等[86]用拉曼光谱结合化学计量分析实现对6种不同鱼类的份鱼类样本的物种判别分析，并实现对新鲜、一次冻融和两次冻融程度的鱼肉进行区分。除了直接检测肉质成分从而判断食品是否变质外，还可以通过拉曼光谱检测到肉类的剪切力，从而进行肉类质量评估。Fowler等[87]用拉曼光谱预测了新鲜羊半膜嫩度，与粒度分析（Particle Size Analysis，PSA）测量相比，拉曼光谱可能是剪切力变化的更好指标。

3.4.4　小结

由于样品制备简单，拉曼光谱能够在食品药物残留、掺假和品质鉴定领域提供快速的检测方法。其检测的快速性为大范围的食品快速检测提供了可能，从而保障食品安全。

4　存在的问题与展望

本文总结了典型拉曼光谱技术的原理和优缺点，分析了拉曼光谱在植物检测、土壤检测、食品检测和水质检测领域的应用。作为分子光谱，拉曼光谱由于其快速测量、在体测量的特性在农业多领域检测中已经取得了丰硕的研究成果。但是由于拉曼光谱在农业领域仍然是一个较新的技术，因此还有许多在农业领域应用的特异性问题需要解决，如光谱成像速度、光谱荧光干扰和灵敏度等。

4.1 需解决的问题

光谱成像在农业领域是研究待测对象的物质成分空间分布的有力工具，但是当前的拉曼光谱成像速度还不能达到实时成像分析的目的。为了能够研究包括植物、动物等研究对象在内的生理化学反应过程等，需要研究快速的拉曼光谱成像技术应用。受激拉曼光谱和相干反斯托克斯拉曼光谱技术能够满足这一要求，在未来的发展中，农业检测对象的快速成像的研究中将会有更多关于这两种技术的应用。

农业领域检测对象大多是带有强荧光的物质。荧光信号限制了拉曼信号的分析，许多样品，尤其是生物样品，在可见光的激发下产生很强的荧光信号，甚至湮没拉曼信号。解决荧光信号干扰的问题也是拉曼光谱应用于农业检测面临的重要问题。降低拉曼光谱测量的荧光信号主要分两个方面：一个是测量系统改进，另一个是算法处理。在测量系统改进方面，近红外激发光激发样品能够有效减小样品产生的荧光，1064 nm作为激发光，使用铟镓砷探测器的拉曼系统，可以有效降低待测物质的荧光效应对拉曼测量的影响[88]。除了改变激发光波长，移频激发拉曼差分光谱也能够有效消除测量过程中的荧光。Theurer等[89]使用785 nm附近的两个光源激发样品，通过差分处理，对土壤进行表征，有效降低了荧光信号。在算法方面，主要有airPLS等算法[90]和多项式拟合算法进行基线校正。拉曼光谱在农业领域应用的研究中，研发适用于农业对象（土壤、水质、植物、动物等）的专用拉曼设备，从而获得最佳的拉曼信号是发展方向。

拉曼光谱在农业领域需要更高的灵敏度进行目标物的识别、分析。超低浓度检测物的定量问题吸引了研究者的关注。SERS是超灵敏检测的一个很有潜力的工具，但是在超低浓度检测中，很强的信号起伏限制它成为一种定量技术。通过改进SERS增强基底，可以针对不同的检测物进行修饰，并且可以提高稳定性和灵敏度，增加重复利用次数，提高经济性，而且现在有非金属的SERS基底能够有很好的生物相容性[91]，为SERS用于农业领域的研究拓宽思路。傅里叶拉曼光谱因为没有色散元件，同样能够比色散型拉曼光谱仪信号更强[88]。共振拉曼光谱也是提升灵敏度的一种有效方法。未来的农业应用中，针对不同的研究环境和研究需求进行适合的技术选择甚至将不同技术的优势进行融合能够提供更高的灵敏度。

4.2 未来研究展望

在植物科学领域，在体检测或监测的基体中多含有大量的水分，拉曼光谱作为对水不敏感的分子光谱广泛应用于生命体的在体测量和检测中。正是由于这一优势，拉曼光谱越来越多的用于植物表型的研究中，尤其是对于植物表型在体传感器的开发领域。无需过多的样品制备，即可用拉曼光谱进行检测和分析，这为大田植物的现场植物表型和状态测量提供了快速分析和监测的方法和手段。同时，由于拉曼光谱的“分子指纹”特性，能够表征植物体内的不同物质的成分和含量信息，因此在未来将会有更多的研究专注于使用拉曼光谱进行植物表型的研究等工作。

在动物科学领域，结合拉曼光谱和化学计量学方法能够在体监测动物的生理化学状况，从而推断动物的健康状况。但是对于活体动物中的监测的理化指标较少，现有典型的监测指标为葡萄糖[92]，需要有更多的研究来用于活体动物理化指标的监测。

农业领域检测场景复杂多样，因此需要不同测量方式的拉曼光谱仪以满足实验室和现场的测量需求。便携式拉曼光谱仪可在现场用于植物的原位和在线测量，更加稳定和准确的便携拉曼光谱测量方法需要进一步研究。遥测拉曼光谱仪的测量已经有关于水温测量的研究[73,74]，但至今还没有用于农业其他方面的研究，需要进一步研究和分析。未来甚至可以将主动光源激发的拉曼光谱仪装在无人机和农机设备上，从而实现地面和近地面的联动信息获取。

参考文献：

[1] 赵春江. 智慧农业发展现状及战略目标研究[J]. 智慧农业(中英文), 2019, 1(1): 1-7.
ZHAO C. State-of-the-art and recommended developmental strategic objectivs of smart agriculture[J]. Smart Agriculture, 2019, 1(1): 1-7.

[2] RAMAN C V. A new radiation[J]. Indian Journal of physics, 1928, 2: 387-398.

[3] GRAVES P, GARDINER D. Practical Raman spectroscopy[M]. Heidelberg: Springer Berlin, 1989.

[4] SMEKAL A. Zur quantentheorie der dispersion[J]. Naturwissenschaften, 1923, 11(43): 873-875.

[5] RAMAN C V, KRISHNAN K S. A new type of secondary radiation[J]. Nature, 1928, 121(3048): 501-502.

[6] PUPPELS G J, DE MUL F F M, OTTO C, et al. Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microspectroscopy[J]. Nature, 1990, 347(6290): 301-303.

[7] LEW T T S, SAROJAM R, JANG I C, et al. Species-independent analytical tools for next-generation agriculture[J]. Nature Plants, 2020, 6(12): 1408-1417.

[8] CHASE D B. Fourier transform Raman spectroscopy[J]. Journal of the American Chemical Society, 1986, 108(24): 7485-7488.

[9] OZAKI Y, CHO R, IKEGAYA K, et al. Potential of near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy in food analysis[J]. Applied Spectroscopy, 1992, 46(10): 1503-1507.

[10] CHASE B. Fourier transform Raman spectroscopy[J]. Analytical Chemistry, 1987, 59(14): 881A-890A.

[11] DZSABER S, NEGYEDI M, BERNÁTH B, et al. A Fourier transform Raman spectrometer with visible laser excitation[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2015, 46(3): 327-332.

[12] FLEISCHMANN M, HENDRA P J, MCQUILLAN A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode[J]. Chemical Physics Letters, 1974, 26(2): 163-166.

[13] BAN R, YU Y, ZHANG M, et al. Synergetic SERS enhancement in a metal-like/metal double-shell structure for sensitive and stable application[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(15): 13564-13570.

[14] WENG S, HU X, WANG J, et al. Advanced application of Raman spectroscopy and surface-enhanced Raman spectroscopy in plant disease diagnostics: A review[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(10): 2950-2964.

[15] DAS R S, AGRAWAL Y K. Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications[J]. Vibrational Spectroscopy, 2011, 57(2): 163-176.

[16] BAILO E, DECKERT V. Tip-enhanced Raman scattering[J]. Chemical Society Reviews, 2008, 37(5): 921-930.

[17] HE Z, QIU W, KIZER M E, et al. Resolving the sequence of RNA strands by Tip-Enhanced Raman Spectroscopy[J]. ACS Photonics, 2020, 8(2): 424-430.

[18] SACCO A, MANGINO S, PORTESI C, et al. Novel approaches in tip-enhanced Raman spectroscopy: Accurate measurement of enhancement factors and pesticide detection in tip dimer configuration[J]. The Journal of Physical Chemistry C, 2019, 123(40): 24723-24730.

[19] NEUGEBAUER U, RÖSCH P, SCHMITT M, et al.

On the way to nanometer-sized information of the bacterial surface by tip-enhanced Raman spectroscopy[J]. ChemPhysChem, 2006, 7(7): 1428-1430.

[20] CIALLA D, DECKERT-GAUDIG T, BUDICH C, et al. Raman to the limit: Tip-enhanced Raman spectroscopic investigations of a single tobacco mosaic virus[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2009, 40(3): 240-243.

[21] DAS R S, AGRAWAL Y K. Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications[J]. Vibrational Spectroscopy, 2011, 57(2): 163-176.

[22] STROMMEN D P, NAKAMOTO K. Resonance Raman spectroscopy[J]. Journal of Chemical Education, 1977, 54(8): 474.

[23] ROBERT B. Resonance Raman spectroscopy[J]. Photosynthesis Research, 2009, 101(2): 147-155.

[24] LU L, SHI L, SECOR J, et al. Resonance Raman scattering of β-carotene solution excited by visible laser beams into second singlet state[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2018, 179: 18-22.

[25] MERLIN J C. Resonance Raman spectroscopy of carotenoids and carotenoid-containing systems[J]. Pure and Applied Chemistry, 1985, 57(5): 785-792.

[26] AFSETH N K, BLOOMFIELD M, WOLD J P, et al. A novel approach for subsurface through-skin analysis of salmon using spatially offset Raman spectroscopy (SORS) [J]. Applied Spectroscopy, 2014, 68(2): 255-262.

[27] MOREY R, ERMOLENKOV A, PAYNE W Z, et al. Non-invasive identification of potato varieties and prediction of the origin of tuber cultivation using spatially offset Raman spectroscopy[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(19): 4585-4594.

[28] MOSCA S, CONTI C, STONE N, et al. Spatially offset Raman spectroscopy[J]. Nature Reviews Methods Primers, 2021, 1(1): 1-16.

[29] MOSIER-BOSS P A, LIEBERMAN S H, NEWBERY R. Fluorescence rejection in Raman spectroscopy by shifted-spectra, edge detection, and FFT filtering techniques[J]. Applied Spectroscopy, 1995, 49(5): 630-638.

[30] SOWOIDNICH K, VOGEL S, MAIWALD M, et al. Determination of soil constituents using shifted excitation Raman difference spectroscopy[J]. Applied Spectroscopy, 2022, 76(6): 712-722.

[31] TOLLES W M, NIBLER J W, MCDONALD J R, et al. A review of the theory and application of coherent anti-Stokes Raman spectroscopy (CARS)[J]. Applied Spectroscopy, 1977, 31(4): 253-271.

[32] FREUDIGER C W, MIN W, SAAR B G, et al. Label-free biomedical imaging with high sensitivity by stimulated Raman scattering microscopy[J]. Science, 2008, 322(5909): 1857-1861.

[33] LITTLEJOHN G R, MANSFIELD J C, PARKER D, et al. In vivo chemical and structural analysis of plant cuticular waxes using stimulated Raman scattering microscopy[J]. Plant physiology, 2015, 168(1): 18-28.

[34] ZENG Y, SAAR B G, FRIEDRICH M G, et al. Imaging lignin-downregulated alfalfa using coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy[J]. BioEnergy Research, 2010, 3(3): 272-277.

[35] KHODABAKHSHIAN R, ABBASPOUR-FARD M H. Pattern recognition-based Raman spectroscopy for non-destructive detection of pomegranates during maturity[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2020, 231: ID 118127.

[36] QIN J, CHAO K, KIM M S. Nondestructive evaluation of internal maturity of tomatoes using spatially offset Raman spectroscopy[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 71: 21-31.

[37] MOREY R, ERMOLENKOV A, PAYNE W Z, et al. Non-invasive identification of potato varieties and prediction of the origin of tuber cultivation using spatially offset Raman spectroscopy[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412: 4585-4594.

[38] FARBER C, SANCHEZ L, RIZEVSKY S, et al. Raman spectroscopy enables non-invasive identification of peanut genotypes and value-added traits[J]. Scientific reports, 2020, 10(1): 1-10.

[39] JENTZSCH P V, CIOBOTA V, SALINAS W, et al. Distinction of Ecuadorian varieties of fermented cocoa beans using Raman spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2016, 211: 274-280.

[40] KRIMMER M, FARBER C, KUROUSKI D. Rapid and noninvasive typing and assessment of nutrient content of maize kernels using a handheld Raman spectrometer[J]. ACS Omega, 2019, 4(15): 16330-16335.

[41] 张燕燕, 李灿, 苏睿, 等. 利用表面增强拉曼光谱定量检测植物激素脱落酸[J]. 智慧农业(中英文), 2022, 4(1): 121.
ZHANG Y, LI C, SU R, et al. Quantitative determination of plant hormone abscisic acid using surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Smart Agriculture, 2022, 4(1): 121-129.

[42] SCHULZ H, BARANSKA M, BARANSKI R. Potential of NIR-FT-Raman spectroscopy in natural carotenoid analysis[J]. Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 2005, 77(4): 212-221.

[43] MU T, WANG S, LI T, et al. Detection of pesticide residues using Nano-SERS chip and a smartphone-based Raman sensor[J]. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 2018, 25(2): 1-6.

[44] FISCHER S, SCHENZEL K, FISCHER K, et al. Applications of FT Raman spectroscopy and micro spectros-

copy characterizing cellulose and cellulosic biomaterials[C]// Macromolecular Symposia. Weinheim: WILEY -VCH Verlag, 2005, 223(1): 41-56.

[45] BARSBERG S, MATOUSEK P, TOWRIE M. Structural analysis of lignin by resonance Raman spectroscopy[J]. Macromolecular Bioscience, 2005, 5(8): 743-752.

[46] OLIVEIRA D M, MOTA T R, GRANDIS A, et al. Lignin plays a key role in determining biomass recalcitrance in forage grasses[J]. Renewable Energy, 2020, 147: 2206-2217.

[47] HUANG C, SINGH G P, PARK S H, et al. Early diagnosis and management of nitrogen deficiency in plants utilizing Raman spectroscopy[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: ID 663.

[48] SANCHEZ L, ERMOLENKOV A, BISWAS S, et al. Raman spectroscopy enables non-invasive and confirmatory diagnostics of salinity stresses, nitrogen, phosphorus, and potassium deficiencies in rice[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: ID 1620.

[49] GUPTA S, HUANG C H, SINGH G P, et al. Portable Raman leaf-clip sensor for rapid detection of plant stress[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-10.

[50] ZHAO X, CAI L. Early detection of zinc deficit with confocal Raman spectroscopy[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2018, 49(10): 1706-1712.

[51] SANCHEZ L, FARBER C, LEI J, et al. Noninvasive and nondestructive detection of cowpea bruchid within cowpea seeds with a hand-held Raman spectrometer[J]. Analytical Chemistry, 2019, 91(3): 1733-1737.

[52] SANCHEZ L, ERMOLENKOV A, TANG X, et al. Non-invasive diagnostics of Liberibacter disease on tomatoes using a hand-held Raman spectrometer[J]. Planta, 2020, 251(3): 1-6.

[53] SANCHEZ L, PANT S, MANDADI K, et al. Raman spectroscopy vs quantitative polymerase chain reaction in early stage Huanglongbing diagnostics[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-10.

[54] LIN Y, LIN H, LIN Y. Construction of Raman spectroscopic fingerprints for the detection of Fusarium wilt of banana in Taiwan[J]. PloS One, 2020, 15(3): ID e0230330.

[55] 代芬, 邱泽源, 邱倩, 等. 基于拉曼光谱和自荧光光谱的柑橘黄龙病快速检测方法[J]. 智慧农业, 2019, 1(3): 77-86.
DAI F, QIU Z, QIU Q, et al. Rapid detection of citrus Huanglongbing using Raman spectroscopy and Autofluorescence spectroscopy[J]. Smart Agriculture, 2019, 1(3): 77-86.

[56] TIMCHENKO E V, TIMCHENKO P E, ZHERDEVA L A, et al. Raman spectroscopy for the control of soil contamination by copper ions[C]// Journal of Physics: Conference Series. Samara, Russia, IOP Publishing, 2015, 643(1): ID 012032.

[57] ZHANG C, ZHU J, LI J, et al. Small and sharp triangular silver nanoplates synthesized utilizing tiny triangular nuclei and their excellent SERS activity for selective detection of thiram residue in soil[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(20): 17387-17398.

[58] LIN X, LIN S, LIU Y, et al. Lab-on-paper surface-enhanced Raman spectroscopy platform based on self-assembled Au@ Ag nanocube monolayer for on-site detection of thiram in soil[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2019, 50(7): 916-925.

[59] NIE P, DONG T, XIAO S, et al. Quantitative determination of thiabendazole in soil extracts by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Molecules, 2018, 23(8): ID 1949.

[60] RUBIRA R J G, CAMACHO S A, CONSTANTINO C J L, et al. Increasing the sensitivity of surface-enhanced Raman scattering detection for s-triazine pesticides by taking advantage of interactions with soil humic substances[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2022, 53(1): 40-48.

[61] LI H, BI Q, YANG K, et al. D2O-isotope-labeling approach to probing phosphate-solubilizing bacteria in complex soil communities by single-cell Raman spectroscopy[J]. Analytical Chemistry, 2019, 91(3): 2239-2246.

[62] SCHWARZ M, KLOß S, STÖCKEL S, et al. Pioneering particle-based strategy for isolating viable bacteria from multipart soil samples compatible with Raman spectroscopy[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2017, 409(15): 3779-3788.

[63] DONG T, XIAO S, HE Y, et al. Rapid and quantitative determination of soil water-soluble nitrogen based on surface-enhanced Raman spectroscopy analysis[J]. Applied Sciences, 2018, 8(5): ID 701.

[64] VOGEL C, ADAM C, MCNAUGHTON D. Determination of phosphate phases in sewage sludge ash-based fertilizers by Raman microspectroscopy[J]. Applied Spectroscopy, 2013, 67(9): 1101-1105.

[65] VOGEL C, RIVARD C, TANABE I, et al. Microspectroscopy - promising techniques to characterize phosphorus in soil[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2016, 47(18): 2088-2102.

[66] LIU Y, SHI Y, CAI L, et al. Determination of copper, zinc, cadmium and lead in water using co-precipitation method and Raman spectroscopy[J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2013, 6(3): ID 1350021.

[67] HU Y, LIAO J, WANG D, et al. Fabrication of gold nanoparticle-embedded metal-organic framework for highly sensitive surface-enhanced Raman scattering detection[J]. Analytical chemistry, 2014, 86(8): 3955-3963.

[68] MARIÑO-LOPEZ A, SOUSA-CASTILLO A, BLAN-

CO-FORMOSO M, et al. Microporous plasmonic capsules as stable molecular sieves for direct SERS quantification of small pollutants in natural waters[J]. ChemNanoMat, 2019, 5(1): 46-50.

[69] ESCORIZA M F, VANBRIESEN J M, STEWART S, et al. Raman spectroscopy and chemical imaging for quantification of filtered waterborne bacteria[J]. Journal of Microbiological Methods, 2006, 66(1): 63-72.

[70] YANG C, SHI X, YUAN J. Study on the application of Raman spectroscopy on detecting water hardness[J]. Water Environment Research, 2014, 86(5): 417-420.

[71] LI Z, WANG J, LI D. Applications of Raman spectroscopy in detection of water quality[J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2016, 51(4): 333-357.

[72] LI Z, DEEN M J, KUMAR S, et al. Raman spectroscopy for in-line water quality monitoring—Instrumentation and potential[J]. Sensors, 2014, 14(9): 17275-17303.

[73] REN X, LING W, TIAN Z, et al. Study on practical Raman Lidar seawater temperature remote sensing system [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 39(3): ID 778.

[74] LEONARD D A, CAPUTO B, GUAGLIARDO J L, et al. Remote sensing of subsurface water temperature by laser Raman spectroscopy[C]// Proceedings Volume 0208, Ocean Optics VI. Monterey, United States, Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE). 1980, 208: 198-205.

[75] KONG L, HUANG M, CHEN J, et al. In situ detection of thiram in fruits and vegetables by colorimetry/surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Laser Physics, 2020, 30(6): ID 065602.

[76] HU B, SUN D W, PU H, et al. Rapid nondestructive detection of mixed pesticides residues on fruit surface using SERS combined with self-modeling mixture analysis method[J]. Talanta, 2020, 217: ID 120998.

[77] DHAKAL S, PENG Y, LI Y, et al. Rapid detection of chlorpyrifos pesticide residue concentration in agro-product using Raman spectroscopy[C]// Sensing for Agriculture and Food Quality and Safety VI. Baltimore, United States, Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE), 2014.

[78] 张莎, 刘木华, 陈金印, 等. 采用表面增强拉曼光谱技术快速检测脐橙果皮中抑霉唑残留[J]. 智慧农业(中英文), 2021, 3(4): 42-52.
ZHANG S, LIU M, CHEN J, et al. Rapid detection of Imazalil residues in navel orange peel using surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Smart Agriculture, 2021, 3(4): 42-52.

[79] TSAGKARIS A S, PULKRABOVA J, HAJSLOVA J. Optical screening methods for pesticide residue detection in food matrices: Advances and emerging analytical trends[J]. Foods, 2021, 10(1): ID 88.

[80] ZHAO J, LIU P, YUAN H, et al. Rapid detection of tetracycline residues in duck meat using surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Journal of Spectroscopy, 2016: ID 1845237.

[81] GIRMATSION M, MAHMUD A, ABRAHA B, et al. Rapid detection of antibiotic residues in animal products using surface-enhanced Raman Spectroscopy: A review[J]. Food Control, 2021, 126: ID 108019.

[82] JOSHI R, LOHUMI S, JOSHI R, et al. Raman spectral analysis for non-invasive detection of external and internal parameters of fake eggs[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 303: 127243.

[83] OROIAN M, ROPCIUC S, PADURET S. Honey adulteration detection using Raman spectroscopy[J]. Food analytical methods, 2018, 11(4): 959-968.

[84] XU Y, ZHONG P, JIANG A, et al. Raman spectroscopy coupled with chemometrics for food authentication: A review[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020: ID 116017.

[85] AHMAD N, SALEEM M, AHMED M, et al. Heating effects of desi ghee using Raman spectroscopy[J]. Applied Spectroscopy, 2018, 72(6): 833-846.

[86] VELIOĞLU H M, TEMIZ H T, BOYACI I H. Differentiation of fresh and frozen-thawed fish samples using Raman spectroscopy coupled with chemometric analysis[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 283-290.

[87] FOWLER S M, SCHMIDT H, VAN DE VEN R, et al. Predicting tenderness of fresh ovine semimembranosus using Raman spectroscopy[J]. Meat Science, 2014, 97 (4): 597-601.

[88] KIZIL R, IRUDAYARAJ J. Discrimination of irradiated starch gels using FT-Raman spectroscopy and chemometrics[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(1): 13-18.

[89] THEURER L S, MAIWALD M, SUMPF B. Shifted excitation Raman difference spectroscopy: A promising tool for the investigation of soil[J]. European Journal of Soil Science, 2021, 72(1): 120-124.

[90] ZHANG Z, CHEN S, LIANG Y. Baseline correction using adaptive iteratively reweighted penalized least squares[J]. Analyst, 2010, 135(5): 1138-1146.

[91] CHEN N, XIAO T H, LUO Z, et al. Porous carbon nanowire array for surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 1-8.

[92] CHEN F, CHEN C, CHEN C, et al. Application of PLSR in rapid detection of glucose in sheep serum[J]. Optik, 2020, 224: ID 165734.

Typical Raman Spectroscopy Ttechnology and Research Progress in Agriculture Detection

GAO Zhen[1,2], ZHAO Chunjiang[1,2], YANG Guiyan[2], DONG Daming[2*]

(1. *College of Information and Electrical Engineering*, *China Agricultural University*, *Beijing* 100083, *China*;
2. *National Engineering Research Center for Information Technology in Agriculture*, *Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences*, *Beijing* 100097, *China*)

Abstract: Raman spectroscopy is a type of scattering spectroscopy with features such as rapid, less susceptible to moisture interference, no sample pre-treatment and in vivo detection. As a powerful characterization tool for analyzing and testing the molecular composition and structure of substances, Raman spectroscopy is also playing an extremely important role in the detection of plant and animal phenotypes, food safety, soil and water quality in the agricultural field with the continuous improvement of Raman spectroscopy technology. In this paper, the detection principles of Raman spectroscopy are introduced, and the new progresses of eight Raman spectroscopy technology are summarized, including confocal microscopy Raman spectroscopy, Fourier transform Raman spectroscopy, surface-enhanced Raman spectroscopy, tip-enhanced Raman spectroscopy, resonance Raman spectroscopy, spatially shifted Raman spectroscopy, frequency-shifted excitation Raman difference spectroscopy and Raman spectroscopy based on nonlinear optics, etc. And their advantages and disadvantages and application scenarios are prerented, respectively. The applications of Raman spectroscopy in plant detection, soil detection, water quality detection, food detection, etc. are summarized. It can be specifically subdivided into plant phenotype, plant stress, soil pesticide residue detection, soil colony detection, soil nutrient detection, food pesticide detection, food quality detection, food adulteration detection, and water quality detection. In future agricultural applications, the elimination of fluorescence background due to complex living organisms in Raman spectroscopy is the next research direction. The study of stable enhanced substrates is an important direction in the application of Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS). In order to meet the measurement of different scenarios, portable and telemetric Raman spectrometers will also play an important role in the future. Raman spectroscopy needs to be further explored for a wide variety of research objects in agriculture, especially for applications in animal science, for which there is still a paucity of relevant studies up to now. In the existing field of agricultural research, it is necessary to pursue the characterization of more specific substances by Raman spectroscopy, which can prompt the application of Raman spectroscopy for a wider range of uses in agriculture. Further, the pursuit of lower detection limits and higher stability for practical applications is also the direction of development of Raman spectroscopy in the field of agriculture. Finally, the challenges that need to be solved and the future development directions of Raman spectroscopy are proposed in the field of agriculture in order to bring more inspiration to future agricultural production and research.

Key words: Raman spectroscopy; plant phenotyping; plant stress detection; soil detection; pesticide residue detection; water quality detection; food detection